Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 1, Spring 2024, p. 133-146

Effect of Harvesting Time and Drying Methods on the Quantity and Quality of the Essential Oil of Peppermint Medicinal Plant (*Mentha piperita*)

H. Hatami[1], Gh.A. Rassam[2*], A. Dadkhah[3]

1, 2 and 3- M.Sc Graduate, Associate Professor and Professor, Department of Production and Plant Genetic, Shirvan Faculty of Agriculture, University of Bojnord, Bojnord, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: rassam@um.ac.ir)

Received:	04-02-2023	**How to cite this article:**
Revised:	04-07-2023	Hatami, H., Rassam, Gh.A., & Dadkhah, A. (2024). Effect of harvesting time and drying methods on the quantity and quality of the essential oil of peppermint medicinal plant (*Mentha piperita*). *Journal of Horticultural Science, 38*(1), 133-146. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80799.1232
Accepted:	18-11-2023	
Available Online:	18-11-2023	

Introduction

Mint has been used both as a medicinal and aromatic plant since ancient times. Peppermint volatile oil is one of the most important essential oils and has strong antimicrobial activity. The stage at which the maximum essential oil is obtained from the plant is not necessarily the stage at which the plant has the most biomass, therefore, the appropriate time for harvesting the plant should be determined according to the maximum amount of the effective substance and the yield of dry matter. In most of the methods of producing medicinal plants, quick access to the equipment for extracting effective substances is not possible, especially at high levels, and this requires drying a large part of the plants and extracting the effective substance in subsequent times. The quality of dried medicinal plants is defined by the content of their biologically active compounds. This study was aimed to determine the best time to harvest peppermint and the effect of different drying methods on the shoots biochemical compounds.

Materials and Methods

In order to increase the yield of peppermint medicinal plant essential oil, two separate experiments were designed and conducted in Shirvan Higher Education Complex (N 26 37', E 45 57', altitude 1067 m) in 2015. The aim of first experiment was finding the best harvest time at three levels (Before flowering, at flowering 50 and 100%) and the second experiment was finding the best method for shoot drying with nine levels (Microwave radiation at 90, 180, 360, 600 and 900 watts; Oven at 40 and 60°C; Shade; and Sun), were based on a completely randomized block design (CRBD) and a completely randomized design (CRD), respectively. In the spring of 2015, tillage operations were carried out and after preparing the land, 9 plots (2 × 3 meters) were created in it. The distance between the plots was considered 1.5 m. Rizhomes of peppermint plant was obtained from Mashhad Agricultural and Natural Resources Research Center and transplanted at 20 × 30 cm intervals on May 26. Some morpholocial and biochemical traits were measured. Essential oil extraction was done by distillation method with water and essential oil components were determined by GC/Mass method.

Results and Discussion

The effect of harvesting time was significant ($p\leq0.01$) on the plant height, number of leaves per plant, wet and dry yield of peppermint plant. The height of the plant after 50% flowering stage did not show any significant difference, but the other investigated traits include the number of leaves per plant, the wet and dry yield of the plant, the yield of essential oil in terms of wet and dry weight, and the inhibition of free radicals in the branches in shoots harvested at the time of full flowering had the highest amount, which showed a statistically significant

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80799.1232

difference. The yield of essential oil in terms of dry matter in the full flower stage increased 1.8 times compared to the 50% flowering stage and 4.6 times compared to the pre-flowering stage. The percentage of essential oil components was also affected by the harvest time, and the highest amount was observed in the full flowering stage (98.92 percent), include the highest amount in menthol (42.39 percent) and menthone (19.13 percent). The use of micro rays caused the shortest drying time, so that with the increase of power of micro rays, the drying time decreased and the shoots were dried in 0.16 hours at the power of 900 watts. The oven application at 60 and 40 °C were statistically ranked second and third in terms of drying speed with 10 and 14.6 hours. Sun and shade drying needed 46 and 109.6 hours to reach constant moisture, respectively. The highest amount of essential oil was obtained in the shade drying method (2.13%) and the lowest amount was observed in the microwave application at 900 and 600 watt. (0.01%). After shade drying, the highest amount of essential oil was observed in the oven method at 40 °C (2%) and in the sun drying (1.44%). According to the results of this study, it is recommended to harvest the branches at the time of full flowering and dry them using oven at 40 °C to obtain more essential oil yield of peppermint shoots.

Conclusion

In general, the harvesting time has a significant effect on the morphological characteristics and essential oil of the peppermint shoots. Harvesting peppermint in the full flowering stage resulted in the highest amount of essential oil and essential oil yield. The maximum height and number of leaves in the plant were obtained by harvesting at the time of full flowering, but the maximum wet and dry yield of shoots was observed at the harvest of 50% of flowering. The amount of menthol and menthone as the most important compounds of mint essential oil in the full flowering stage was higher than the other two harvesting times. Also, based on the results of this experiment, different methods of drying peppermint plant have various effects on the essential oil amount of peppermint shoots. The shortest time until drying was related to the use of microwave, oven, sun and shade, respectively, and the highest yield of essential oil was obtained in shade, oven at 40 °C, microwave at 90 watt and sun, respectively.

Keywords: Full bloom, Microwave, Menthol, Menthone, Oven

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۱، بهار ۱٤۰۳، ص. ١٤٦-١٣٣

تأثیر زمان برداشت و روش‌های خشک کردن بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در شرایط آب و هوایی شیروان

حمیرا حاتمی[1]- قربانعلی رسام[2]*- علیرضا دادخواه[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۷

چکیده

به‌منظور افزایش عملکرد اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) دو آزمایش جداگانه با هدف یافتن بهترین زمان برداشت (قبل از گلدهی، در زمان گلدهی ۵۰ و ۱۰۰ درصد) و بهترین روش خشک کردن سرشاخه‌ها (اشعه مایکرو: ۹۰، ۱۸۰، ۳۶۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ وات؛ آون: ۴۰ و۶۰ درجه سانتی‌گراد؛ سایه و آفتاب) در سال ۱۳۹۵ در مجتمع آموزش عالی شیروان به‌ترتیب، بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی و طرح پایه کاملاً تصادفی طراحی و اجرا گردید. اثر زمان برداشت بر ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، عملکرد تر و خشک گیاه نعناع فلفلی معنی‌دار ($p\leq0.01$) بود. ارتفاع بوته بعد ازمرحله ۵۰ درصد گلدهی اختلاف معنی‌داری نشان نداد ولی سایر صفات مورد بررسی شامل تعداد برگ در بوته، عملکرد تر و خشک گیاه، بازده و عملکرد اسانس بر حسب وزن تر و خشک و مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در سرشاخه‌های برداشت شده در زمان گلدهی کامل بالاترین میزان را داشتند که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. عملکرد اسانس بر حسب ماده خشک در مرحله تمام گل ۱/۸ برابر نسبت به مرحله ۵۰ درصد گلدهی و ۴/۶ برابر نسبت به مرحله قبل از گلدهی افزایش نشان داد. درصد اجزای اسانس نیز تحت تأثیر زمان برداشت قرار گرفت و بالاترین میزان آن در مرحله گلدهی کامل (۹۸/۹۲ درصد) مشاهده شد که بالاترین میزان در منتول (۴۲/۳۹ درصد) و منتون (۱۹/۱۳ درصد) در میان مراحل برداشت بود. کاربرد اشعه مایکرو کوتاه‌ترین زمان خشک شدن سرشاخه‌های نعناع فلفلی را ایجاد کرد بطوری‌که با افزایش توان اشعه مایکرو، زمان خشک کردن کاهش یافت و سرشاخه‌ها در توان ۹۰۰ وات در ۰/۱۶ ساعت خشک شدند. دماهای ۶۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون به‌ترتیب از نظر آماری در جایگاه دوم و سوم از نظر سرعت خشک شدن با ۱۰ و ۱۴/۶ ساعت قرار گرفتند. خشک شدن در آفتاب و در سایه به‌ترتیب به ۴۶ و ۱۰۹/۶ ساعت زمان برای رسیدن به رطوبت ثابت نیاز داشتند. بیشترین درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی در روش خشک کردن در سایه بدست آمد (۲/۱۳ درصد) و کمترین میزان در روش خشک کردن با توان ۹۰۰ و ۶۰۰ مایکروویو (۰/۰۱ درصد) مشاهده شد. پس از روش خشک کردن در سایه بیشترین درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی در روش آون ۴۰ درجه (۲ درصد) و آفتاب (۱/۴۴ درصد) مشاهده شد. مطابق نتایج این مطالعه، برداشت سرشاخه‌ها در زمان تمام گل و خشک کردن با استفاده از آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای گیاه نعناع فلفلی جهت افزایش عملکرد اسانس پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آون، اشعه مایکرو، گلدهی کامل، منتول، منتون

مقدمه

نعناع از زمان‌های گذشته هم به‌عنوان گیاه دارویی و هم به‌عنوان گیاه معطر مورد استفاده قرار می‌گرفته است. از برگ‌های آن به‌عنوان طعم دهنده، دمنوش و ادویه استفاده می‌شود. اسانس نعناع یکی از مهم‌ترین اسانس‌ها بوده و دارای فعالیت ضدمیکروبی قوی است که در ساخت داروها، لوازم آرایشی و طعم‌دهنده‌ها در سراسر جهان استفاده می‌شود (Edris *et al.*, 2003). نعناع و عصاره دم کرده آن سرشار از مواد معدنی ضروری مانند سدیم، منیزیم، پتاسیم، کلسیم، کروم، آهن، کبالت، مس، روی و سلنیوم هستند (Padmini *et al.*, 2010). مطالعات پیشین خاصیت ضد باکتری و ضد قارچی (Sulieman *et*

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: rassam@um.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80799.1232

(Kizil *et al.*, 2010) و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی (*al.*, 2011 عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی نعناع را نشان داده‌اند.

مرحله‌ای که حداکثر اسانس از گیاه بدست می‌آید الزاماً مرحله‌ای نیست که گیاه بیشترین زیست‌توده را دارد بنابراین باید زمان مناسب برای برداشت پیکره گیاه که مطابق با حداکثر میزان ماده مؤثره و عملکرد ماده خشک می‌باشد مشخص شود (Omidbaigi, 2005; MirAhmadi *et al.*, 2009). از آنجا که برخی از ترکیبات شیمیایی که تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی در گیاهان ساخته می‌شوند، به عنوان فرآورده‌های نهایی فعالیت‌های متابولیسمی از نظر اقتصادی بسیار مهم و ارزشمند می‌باشند، از این رو تأثیر عوامل مختلف محیطی بر کیفیت و کمیت ترکیبات مذکور به‌ویژه در زمان برداشت گیاهان باید مورد تحقیق و آزمایش قرار گیرد. کمیت و کیفیت مواد مؤثره درگیاه نعناع فلفلی به مانند سایر گیاهان دارویی علاوه بر زمان برداشت (Omidbaigi, 2005) می‌تواند متأثر از عوامل محدود کننده اکولوژیکی مختلف از جمله دما، دی اکسید کربن، روشنایی، ازن، آب خاک، شوری خاک و حاصلخیزی خاک باشد که تأثیر قابل توجهی بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارویی و همچنین فرآیند متابولیک ثانویه دارد (Bertome *et al.*, 2007). بنابراین موقعیت جغرافیایی محل رویش گیاه دارویی نیز می‌تواند بعنوان عوامل محیطی تأثیرگذار در نظر گرفته شود.

در اغلب روش‌های تولید گیاهان دارویی دسترسی سریع به تجهیزات استخراج مواد مؤثره به‌ویژه در سطوح بالا میسر نبوده و این امر نیازمند خشک کردن قسمت اعظمی از گیاهان و استخراج ماده مؤثره در زمان‌های متعاقب می‌باشد (Omidbaigi, 2005). با توجه به دوره رشد محدود این گیاه، قسمت‌های مورد استفاده آن تحت فرآیندهای تکنولوژی خاصی مانند خشک کردن قرار می‌گیرد تا بدین‌وسیله در تمام طول سال برای مصرف‌کنندگان در دسترس قرار گیرد. خشک کردن یکی از فرآیندهای مهم پس از برداشت گیاهان دارویی است که نقش مهمی در کیفیت و کمیت مواد مؤثر آن‌ها دارد. در فرآیند خشک کردن، کیفیت گیاهان با کاهش رطوبت (با استفاده از عمل تبخیر تا حد رسیدن به یک آستانه خاص) حفظ می‌شود، بطوری‌که از رشد میکروارگانیسم‌ها و تغییرات شیمیایی در طول ذخیره‌سازی خشک جلوگیری می‌شود (Diaz-Maroto *et al.*, 2002). ویژگی‌های محصول نهایی مانند جذب آب، تخلخل، رنگ و بافت به روش‌های خشک کردن مورد استفاده بستگی دارد (Ekechukwu, 1999). یکی دیگر از مهم‌ترین مزایای خشک کردن و کاهش آب محصول در این می‌باشد که هزینه بسته‌بندی، انبارداری و حمل و نقل کاهش یافته و نیز باعث کم شدن حجم و وزن محصول خشک شده می‌شود و قابلیت نگهداری برای مدتی طولانی در دمای محیط را می‌یابند. بعلاوه در گیاهان دارویی، بسته به نوع عملیات فرآوری، ممکن است کیفیت و کمیت محصول تغییر نماید (Mumivand *et al*., 2020; Rahmati *et al.*, 2010). نتایج مطالعات نشان داده است که روش خشک کردن تأثیر معنی‌داری بر میزان اسانس و ترکیب گیاهان معطر دارد چرا که بیشتر اجزای اسانس در دمای بیش از ۳۰ درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد (Yadegari *et al.*, 2013). از جمله روش‌هایی که در خشک کردن گیاهان دارویی بیشتر مرسوم و رایج می‌باشد عبارت از خشک کردن در دمای اتاق و در سایه، خشک کردن در آفتاب، خشک کردن در آون و خشک کردن با امواج مایکروویو می‌باشند. سیستم خشک کردن خورشیدی به‌ویژه برای کشورهایی که در طول سال آفتاب بیشتری دارند اهمیت دارد. خشک کردن با امواج مایکروویو یکی از روش‌های جدید در خشک کردن گیاهان می‌باشد. کوتاه بودن زمان خشک کردن در این روش از مزایای مهم آن است (Blose, 2001). استفاده از اشعه مایکروویو به‌ویژه در خشک کردن گیاهان دارویی دارای اسانس که ماده مؤثره آن‌ها در ناحیه سطحی برگ‌هایشان قرار دارد و در نتیجه به دماهای بالا حساسند، توصیه می‌شود. بنابراین، ضروری است مناسب‌ترین روش‌های کاربردی خشک کردن برای کنترل کیفیت محصول تعیین شود. کیفیت گیاهان خشک طبی با محتوی ترکیبات فعال زیستی آن‌ها تعریف می‌شود (Ebadi *et al*., 2015). هدف از این مطالعه تعیین بهترین زمان برداشت نعناع فلفلی و تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر ترکیبات بیوشیمیایی سرشاخه در بهترین زمان برداشت از نظر ترکیبات دارویی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

محل آزمایش، آماده‌سازی زمین، کاشت و داشت گیاه

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی مجتمع آموزش عالی شیروان (عرض جغرافیایی ۲۶ درجه و ۳۷ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۵ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی، ارتفاع ۱۰۶۷ متر از سطح دریا) اجرا گردید. در فصل بهار سال ۱۳۹۵ اقدام به عملیات خاک‌ورزی شامل شخم سبک، دیسک و تسطیح زمین گردید و پس از آماده‌سازی زمین، ۹ کرت (۲×۳ متر) در آن ایجاد شد. فاصله بین کرت‌ها ۱/۵ متر در نظر گرفته شد. ریشه رست‌های (استولن) گیاه نعناع فلفلی از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مشهد تهیه گردید. قبل از نشاءکاری در هر کرت به میزان ۴ کیلوگرم کود حیوانی با خاک مخلوط شد. پس از آن گیاهچه های سالم و یکنواخت انتخاب شدند و به فواصل ۲۰ × ۳۰ سانتی‌متر در ۲۶ اردیبهشت ماه نشاءکاری شدند. آبیاری بلافاصله پس از کاشت به صورت غرقابی در کرت‌ها انجام شد. عملیات زراعی شامل آبیاری، وجین علف‌های هرز و مبارزه با آفات و بیماری‌ها به‌طور کامل و یکسان برای تمام کرت‌ها در طول فصل رشد انجام شد.

آزمایش اول: تأثیر زمان برداشت

برای بررسی تأثیر زمان برداشت، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه زمان برداشت در سه تکرار اجرا گردید. زمان‌های برداشت عبارت بودند از: ۱) قبل از گلدهی (۲۲ تیر ماه)؛ ۲) در زمان گلدهی ۵۰ درصد (۴ مرداد)؛ و ۳) در زمان گلدهی ۱۰۰ درصد (۲۳ مرداد). به‌منظور اندازه‌گیری صفات در هریک از زمان‌های برداشت ۰/۵ متر مربع از هر کرت نعناع فلفلی برداشت و به آزمایشگاه مجتمع آموزش عالی شیروان منتقل و با ترازو وزن شد. سپس در دمای معمولی آزمایشگاه بدور از نور خورشید در سایه به‌مدت یک هفته خشک و توزین مجدد جهت تعیین وزن خشک انجام گرفت. از هر تکرار سه بوته انتخاب و تعداد برگ‌های بالغ کل بوته شمرده و ارتفاع بلندترین شاخه (طوقه تا نوک شاخه) توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد.

آزمایش دوم: تأثیر روش خشک کردن

به‌منظور بررسی انواع روش‌های خشک کردن، سرشاخه‌های نعناع برداشت شده در زمان ۵۰ درصد گلدهی جمع‌آوری شدند و در سه تکرار با کاربرد روش‌های زیر خشک شدند. ضخامت لایه‌های برگی برای تمام تیمارها یکسان و حدود ۲ میلی‌متر در نظر گرفته شد.

الف) خشک کردن با اشعه مایکروویو: در روش خشک کردن با اشعه مایکروویو از توان‌های مختلف شامل ۹۰، ۱۸۰، ۳۶۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ وات استفاده شد، هر توان شامل سه تکرار بود. در هر تکرار ۱۰۰ گرم نعناع فلفلی تر را در آزمایشگاه وزن کرده و درون دستگاه مایکروفر (LG، مدل MA3884VC) قرار داده شد. نمونه‌ها هر یک دقیقه از دستگاه مایکروفر خارج و توزین شدند. این عمل تا زمانی انجام شد که وزن نعناع به مقدار ثابتی رسید.

ب) خشک کردن با آون: در این روش خشک کردن دو دمای ۴۰ و۶۰ درجه سانتی‌گراد مورد استفاده قرار گرفت و هر دما شامل سه تکرار بود. ۱۰۰ گرم نعناع فلفلی تر توسط ترازو توزین و در دستگاه آون گذاشته شد. هر دو ساعت نمونه‌های نعناع فلفلی از دستگاه آون خارج و وزن شد تا وزن نمونه‌ها به مقدار ثابت رسید.

ج) خشک کردن در سایه: در این روش ۱۰۰ گرم نعناع فلفلی تر با ترازو توزین و در سایه به دور از نور خورشید در اتاق با دمای ۲±۲۵ گذاشته شد. نمونه‌ها هر ۲ ساعت وزن شدند تا وزن نمونه‌ها به مقدار ثابت رسید.

د) خشک کردن در آفتاب: در روش خشک کردن با آفتاب نیز ۱۰۰ گرم نعناع فلفلی تازه را وزن کرده و در آفتاب در فضای باز قرار داده شد. تعداد ساعات آفتابی ۱۱/۴ ساعت و دمای بیشینه و کمینه به‌ترتیب ۳۳/۷ و ۱۵/۵ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. نمونه‌های نعناع فلفلی هر ۲ ساعت وزن شدند، پس از رسیدن وزن نمونه‌های نعناع فلفلی به مقدار ثابت توزین نمونه‌ها پایان یافت.

استحصال اسانس

قبل از خشک کردن نعناع فلفلی از نمونه تر به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری صورت گرفت و از نمونه خشک حاصل از هر کدام از روش‌های خشک کردن نیز بعد از یک هفته به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. ۳۰ گرم نمونه خرد شده نعناع فلفلی را در بالن ۰/۵ لیتری به همراه ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و در دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت قرار داده شد. برای آبگیری از اسانس بدست آمده مقدار ۰/۱ گرم سولفات سدیم به آن اضافه کرده و بعد از ۳۰ دقیقه اسانس و آب دو فاز جدا تشکیل دادند. اسانس خالص بدست آمده یک بار توسط ترازو وزن شد و بار دیگر توسط سرنگ انسولین اندازه‌گیری و تعیین حجم گردید. در انتها پس از محاسبه درصد اسانس و عملکرد اسانس بر حسب وزن خشک و تر، اسانس‌ها درون شیشه ریخته و درب آن کاملاً بسته شد. شیشه‌ها توسط ورقه آلومینیوم پوشانده و در یخچال قرار داده شد (Noruzi *et al.*, 2017). بازده اسانس بصورت درصد حجمی–وزنی و عملکرد اسانس بر اساس حاصلضرب درصد اسانس در میزان تولید در هکتار (وزن تر و خشک) و بدست آمد.

اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال آزاد

به‌منظور اندازه‌گیری میزان درصد مهار رادیکال‌های آزاد، از روش DPPH یا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش پیشنهادی ابراهیم‌زاده و همکاران (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010) با کمی تغییر استفاده شد. برای تهیه عصاره متانولی برگ، مقدار ۰/۵ گرم برگ خشک آسیاب شده همراه با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (نسبت ۱ به ۱۰) در لوله فالکون‌های در بسته (۱۰ میلی‌لیتری) همگن شدند. مواد همگن شده به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد و سپس به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. قسمت فوقانی عصاره برای مرحله بعدی مورد استفاده قرار گرفت. یک میلی‌لیتر از DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار (۴ میلی‌گرم رادیکال در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد) به لوله آزمایش اضافه و سپس یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده از برگ نعناع فلفلی به آن اضافه شد. بعد از آن لوله‌های آزمایش به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و بلافاصله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO، مدل SQ-2800) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. علاوه بر نمونه‌های مذکور یک لوله آزمایش به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که تنها DPPH با غلظت ۰/۱ میلی مولار بوده است. کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر با متانول ۸۰ درصد انجام شد. رنگ محتویات لوله‌ها در جهت افزایش غلظت از سبز

لجنی به زرد تغییر می‌کرد. یعنی غلیظ‌ترین لوله که بیشترین عصاره را دارد زرد و کمترین غلظت سبز لجنی است که مربوط به DPPH است. میزان درصد مهار رادیکال آزاد توسط عصاره حاصل از ۰/۵ گرم وزن خشک پودر برگ نعناع فلفلی مشخص شد.

آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

اسانس حاصل از روش‌های مختلف خشک کردن پس از آماده-سازی به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)واقع در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان تزریق گردیدند تا نوع ترکیبات تشکیل دهنده آن‌ها مشخص شود. دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده از نوع Agilent مدل A7890با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۱۵ میکرولیتر از نوع MS-DB35 بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای اولیه آون ۳۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما برای مدت ۵ دقیقه، گرادیان دمایی ۷ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در دقیقه، افزایش دما تا ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده از نوع Agilent مدل C5975 با ولتاژ یونیزاسیون۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون۲۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

هر دو آزمایش بصورت ساده طراحی شد. آزمایش اول، تأثیر زمان برداشت، با سه تیمار بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی و آزمایش دوم، تأثیر روش خشک کردن، با نه تیمار براساس طرح پایه کاملاً تصادفی و با سه تکرار به اجرا در آمد. داده‌های به‌دست آمده از آزمایش به کمک نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ تجزیه و تحلیل شد (SAS, 1989). میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

آزمایش اول: تأثیر زمان برداشت

اثر زمان برداشت بر صفات مرفولوژیکی و عملکرد گیاه نعناع فلفلی

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر زمان برداشت بر ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، عملکرد تر و خشک گیاه نعناع فلفلی معنی‌دار ($p\leq0.01$) بود (جدول ۱).

از اولین تا آخرین برداشت، صفات تعداد برگ در بوته و ارتفاع بوته نعناع فلفلی افزایش پیدا کرد، به‌طوری‌که در زمان برداشت قبل از گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی و گلدهی کامل ارتفاع بوته نعناع فلفلی به-ترتیب برابر ۳۱/۶، ۴۱/۳ و ۴۴/۳ سانتی‌متر و تعداد برگ به‌ترتیب ۶۸/۳، ۱۰۶/۶ و ۱۱۷/۳ عدد بود (جدول ۲). البته بین زمان برداشت دوم و سوم اختلاف معنی‌داری به لحاظ ارتفاع بوته مشاهده نگردید. بیشترین عملکرد تر و خشک به‌ترتیب، ۹۵۸/۴ و ۱۹۹/۵ گرم در متر مربع در گیاه نعناع فلفلی در زمان ۵۰ درصد گلدهی مشاهده شد، و کمترین عملکرد تر و خشک به‌ترتیب، ۴۲۴ و ۹۸/۹ گرم در متر مربع در زمان قبل از گلدهی بدست آمد (جدول ۲). علی‌رغم اینکه در مرحله گلدهی کامل ارتفاع بوته و تعداد برگ در بوته بیشتر از دو مرحله دیگر می‌باشد، اما عملکرد تر و خشک نعناع فلفلی در ۵۰ درصد گلدهی بیشتر می‌باشد. به‌نظر می‌رسد در مرحله گلدهی کامل به‌دلیل انتقال مجدد مواد غذایی و نیز زرد شدن برگ‌های بیشتر عملکرد تر و خشک نعناع فلفلی نسبت به مرحله ۵۰ درصد گلدهی کاهش پیدا نموده است.

اثر زمان برداشت بر درصد اسانس، عملکرد اسانس و درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد نعناع فلفلی

بازده و عملکرد اسانس بر حسب وزن تر و خشک و مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد بطور معنی‌داری ($p\leq0.01$) متأثر از زمان برداشت بود (جدول ۱).

بازده اسانس گیاه نعناع فلفلی بر حسب وزن تر و خشک در زمان گلدهی کامل (به‌ترتیب، ۰/۶۳ و ۲/۶۰ درصد) نسبت به دو زمان برداشت دیگر بیشتر بود و پس از مرحله گلدهی کامل بیشترین بازده اسانس بر حسب وزن تر و خشک در ۵۰ درصد گلدهی (به‌ترتیب، ۰/۳۹ و ۱/۹۵ درصد) مشاهده شد. بدین صورت بازده اسانس بر حسب وزن تر در مرحله گلدهی کامل به‌ترتیب ۶۲ و ۱۷۴ درصد بیشتر از مرحله ۵۰ درصد گلدهی و قبل از گلدهی بود. به همین ترتیب افزایش ۳۳ و ۱۲۶ درصدی بازده اسانس بر حسب وزن خشک در زمان برداشت گلدهی کامل نسبت به زمان ۵۰ درصد گلدهی و قبل از گلدهی مشاهده گردید (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر زمان برداشت بر برخی صفات رشدی، عملکردی و بیوشیمیایی گیاه نعناع فلفلی

Table 1- ANOVA for the effect of harvest time on some growth- and yield-related traits and biochemical characteristics of *Mentha piperita*

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares								
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد برگ/بوته No. of leaf/Plant	عملکرد تر Fresh yield	عملکرد خشک Dry yield	بازده اسانس بر حسب وزن تر Essential oil based on fresh weight	بازده اسانس بر حسب وزن خشک Essential oil based on dry weight	عملکرد اسانس بر حسب وزن تر Essential oil yield based on fresh weight	عملکرد اسانس بر حسب وزن خشک Essential oil yield based on fresh weight	مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد Free radical scavenging
بلوک Block	2	7.4^{ns}	38.1^{ns}	470914^{ns}	12715^{ns}	0.006^{ns}	0.05^{ns}	30^{ns}	6.8^{ns}	2.77^{ns}
زمان برداشت Harvesting time	2	131.4**	1918.1**	21631530**	761280**	0.121**	1.58**	1981**	1246.7**	323.11**
خطا Error	4	4.2	13.9	287729	10806	0.006	0.0008	25.3	5.9	11.44
ضریب تغییرات C.V (%)	-	5.2	3.8	7.9	7.0	19.2	1.5	15.9	8.0	5.4

ns: غیر معنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

^{ns}: non-significant; **: significant at 1% of probability level.

بیشترین عملکرد اسانس نعناع فلفلی بر حسب وزن تر و خشک در مرحله گلدهی کامل (به‌ترتیب برابر ۵۹/۸۴ و ۵۱/۸۷ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد درحالی‌که کمترین میزان در زمان برداشت قبل از گلدهی (به‌ترتیب برابر ۹/۶۰ و ۱۱/۲۸ کیلوگرم در هکتار) بدست آمد (جدول ۲). امیدبیگی (Omidbaigi, 2005) گزارش کردند که ابتدای مرحله گلدهی زمان مناسبی برای برداشت نعناع فلفلی است که دارای حداکثر مقدار اسانس می‌باشد که با نتایج این آزمایش همسویی دارد. بطور مشابه، بیشترین بازده اسانس گیاه آویشن باغی در اوایل گلدهی در مقایسه با مرحله رویشی و گلدهی کامل مشاهده شد (Nikkhah *et al.*, 2009). بیشترین مقدار عملکرد اسانس آویشن ابلق در مرحله آغاز گلدهی و کمترین مقدار آن در مرحله تشکیل بذر بدست آمد (Omidbaigi, 2005). خورشیدی و همکاران (Khorshidi *et al.*, 2009) گزارش کردند که بیشترین درصد اسانس در گیاه *Thymus daenensis* در دو منطقه ملایر (۳/۴ درصد) و همدان (۲/۹۳ درصد) مربوط به برداشت در مرحله گلدهی کامل نسبت به سایر مراحل شامل رویشی، آغاز گلدهی و بذردهی بود. بطور مشابه، میراحمدی و همکاران (MirAhmadi *et al.*, 2009) بیان کردند که بالاترین میزان اسانس آویشن دنایی و آویشن قره باغی مربوط به مرحله گلدهی کامل (به ترتیب، ۳/۴ و ۲/۹۴ درصد) بود و کمترین میزان اسانس در مرحله تشکیل میوه و بذر (به‌ترتیب، ۲/۱۷ و ۰/۶۶ درصد) حاصل شد.

هر چه زمان برداشت گیاه نعناع فلفلی دیرتر باشد، درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد در اسانس نعناع فلفلی نیز افزایش پیدا می کند، به‌طوری‌که در زمان‌های برداشت قبل از گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی و گلدهی کامل به‌ترتیب برابر ۵۱، ۶۳ و ۷۲ درصد بود (جدول ۲). در واقع می‌توان بیان کرد با افزایش سن گیاه نعناع فلفلی اثرات مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد نیز در اسانس این گیاه افزایش پیدا می کند و باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در اسانس نعناع فلفلی می‌شود. گزارش‌های مشابه در مورد گیاه نعناع از کشورهای مختلف نشان می‌دهد اسانس و عصاره‌های تهیه شده از بعضی ازگونه‌های آن دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی قابل توجه بوده است (Tabatabaei Yazdi *et al.*, 2018). مطالعه سوییتی و همکاران (Sweetie *et al.*, 2007) در هندوستان روی اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی نعناع دشتی (*Mentha spicata*) نشان داد که درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد در این عصاره بسیار زیاد می‌باشد و تا ۷۰ درصد نیز می‌رسد. گزارش شده است که اسانس گیاه *Mentha longifolia* دارای درصد بالای مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد و این امر باعث افزایش خاصیت دارویی این گیاه می‌شود (Sadegi, 2007). یادگاری‌نیا و همکاران (Yadegarinia *et al.*, 2006) نتایج مشابهی را روی اسانس گیاه نعناع فلفلی گزارش کردند و اشاره کردند که ترکیبات فنلی که به‌صورت گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند، در گیاه نعناع باعث بالا رفتن مهار رادیکال های آزاد می‌شوند.

اثر زمان برداشت بر مقدار ترکیبات اسانس نعناع فلفلی

نتایج تجزیه شیمیایی اسانس در گیاه نعناع فلفلی در سه مرحله برداشت (قبل از گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی و گلدهی کامل) در جدول ۳ آورده شده است. از ۱۶ ترکیب شیمیایی اسانس که مورد تجزیه قرار گرفته بود، بالاترین میزان (۹۸/۹۲ درصد) مربوط به برداشت در گلدهی کامل و کمترین میزان (۹۱/۲۶ درصد) مربوط به برداشت در مرحله قبل از گلدهی بود. به‌ترتیب ۹۱/۲۶، ۹۶/۴۷ و ۹۸/۹۲ درصد اسانس مربوط به مرحله قبل از برداشت، ۵۰ درصد گلدهی و گلدهی کامل بود. در هر سه مرحله برداشت بیشترین ترکیب موجود در اسانس گیاه نعناع فلفلی مربوط به ترکیب منتول بود. همچنین نتایج جدول ۳ نشان داد بیشترین مقدار منتول به‌ترتیب در سه مرحله گلدهی کامل (۴۲/۳۹ درصد)، ۵۰ درصد گلدهی (۴۰/۸۶ درصد) و قبل از گلدهی (۳۷/۴۱ درصد) مشاهده شد. پس از منتول بیشترین ترکیب اسانس مربوط به ترکیب منتون بود که در هر سه مرحله قبل از گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی و گلدهی کامل بالای ۱۷/۵ درصد اسانس نعناع فلفلی را تشکیل می‌دهد. تقریباً تمام ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نعناع فلفلی در مرحله گلدهی کامل بیشترین مقدار و در مرحله قبل از گلدهی کمترین مقدار را داشتند (جدول ۳).

ایزکان و همکاران (Işcan *et al.*, 2002) بیان کردند خاصیت ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی به‌دلیل وجود ترکیباتی همچون پولگون، منتول، ایزومنتون می‌باشد و نتایج این آزمایش نتایج آن‌ها را تأیید می کند. از طرف دیگر مشخص شده است که رابطه مستقیمی بین میزان این ترکیبات در اسانس و میزان فعالیت ضدمیکروبی وجود دارد (Delaquis *et al.*, 2002). میزان منتول در نعناع فلفلی از ۵۵-۳۵ درصد و منتون ۴۰-۱۰ درصد در سنین مختلف گیاه متغیر است. همچنین مقدار استرها نیز از ۱۰-۴ درصد متفاوت بوده است (Jaimand *et al.*, 2000, 2003) تحقیقات نشان داده است اگر برگ های نعناع ۱۵-۱۰ روز زودتر از موعد مورد نظر جمع‌آوری شوند درصد منتول تا ۲۰ درصد کاهش پیدا می کند (Chalchat *et al.*, 1997).

جدول ۲- اثر زمان‌های مختلف برداشت بر برخی صفات رشدی، عملکردی و بیوشیمیایی گیاه نعناع فلفلی

Table 2- The effect of different harvesting time on some growth- and yield-related traits and biochemical characteristics of *Mentha piperita*

زمان برداشت Harvesting time	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد برگ/ بوته No. of leaf.Plant^{-1}	عملکرد تر Fresh yield (g.m^{-2})	عملکرد خشک Dry yield (g.m^{-2})	بازده اسانس بر حسب وزن تر Essential oil efficiency based on fresh weight (%)	بازده اسانس بر حسب وزن خشک Essential oil efficiency based on dry weight (%)	عملکرد اسانس بر حسب وزن تر Essential oil yield based on fresh weight (%)	عملکرد اسانس بر حسب وزن خشک Essential oil yield based on fresh weight (%)	مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد Free radical scavenging (%)
قبل از گلدهی Pre-blooming	31.6 b	68.3 c	424.0 c	98.9 c	0.23b	1.15c	9.60c	11.28c	51c
۵۰ درصد گلدهی Blooming at 50%	41.3 a	103.6 b	958.4 b	199.5 b	0.39b	1.95b	25.31b	28.21b	63b
گلدهی کامل Full blooming	44.3 a	117.3 a	644.8 a	145.0 a	0.63a	2.60a	59.84a	51.87a	72a

میانگین‌هایی با حروف مشابه در هر ستون با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each column, the means flowing with the same letter have not significant difference based on the LSD test at 5% of probability level.

جدول ۳- درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نعناع فلفلی در سه زمان برداشت
Table 3- The percentage of *Mentha piperita* essential oil components at three harvesting time

ردیف No.	ترکیب Component	زمان برداشت Harvesting time		
		قبل از گلدهی Pre-blooming	۵۰ درصد گلدهی Blooming at 50%	گلدهی کامل Full blooming
1	Mentone	17.69	18.81	19.13
2	Limonene	1.32	1.55	1.63
3	1,8- cineole	6.33	6.22	6.31
4	Isomenthone	7.12	7.25	7.36
5	Menthofuran	5.21	5.36	5.47
6	Neo menthol	2.06	2.11	2.09
7	Pulegone	7.1	6.93	7.12
8	E- caryophyllene	1.41	1.36	1.33
9	β- pinene	1.6	1.68	1.74
10	Sabinene	0.74	0.81	0.84
11	α- pinene	0.91	0.96	0.93
12	Myrcene	0.55	0.63	0.69
13	Menthyl acetate	0.71	0.81	0.75
14	α- humulene	0.26	0.25	0.29
15	γ- muurolene	0.84	0.88	0.85
16	Menthol	37.41	40.86	42.39
17	Total	91.26	96.47	98.92

آزمایش دوم: تأثیر روش خشک کردن

تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان تا خشک شدن نعناع فلفلی

براساس نتایج تجزیه واریانس روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان خشک شدن گیاه نعناع فلفلی از نظر آماری معنی‌دار ($p≤0.01$) بود. کمترین ساعات مورد نیاز برای خشک کردن سرشاخه‌های نعناع فلفلی تا رسیدن رطوبت آن‌ها به مقدار ثابت مربوط به بکارگیری اشعه مایکرو در توان‌های ۹۰ تا ۹۰۰ وات (به‌ترتیب، ۱/۱۲، ۰/۶۵، ۰/۳۷، ۰/۲۴ و ۰/۱۶ ساعت) بود که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده نشد ولی با افزایش توان دستگاه مایکروفر، زمان برای خشک شدن گیاه نعناع فلفلی کاهش پیدا کرد (جدول ۴). به‌عبارت دیگر هر چه توان دستگاه مایکروفر کمتر باشد زمان بیشتری برای خشک شدن گیاه نعناع فلفلی لازم است، به‌نحوی‌که در توان ۹۰ وات زمان خشک شدن ۷ برابر بیشتر نسبت به توان ۹۰۰ وات است. به علاوه مشخص گردید اگرچه با افزایش توان اشعه مایکرو زمان خشک شدن کاهش و کند می‌شود اما با نزدیک شدن به توان‌های بالاتر شیب کاهش زمان خشک شدن افت می‌کند. برای مثال درحالی‌که زمان خشک شدن در توان ۶۰۰ وات معادل ۱/۵ برابر توان ۹۰۰ وات است برای توان ۱۸۰ معادل ۱/۸ برابر توان ۳۶۰ وات می‌باشد. بعد از روش خشک کردن با دستگاه مایکروفر، استفاده از آن زمان خشک کردن را نسبت به روش‌های سنتی بطور معنی‌داری کاهش داد بطوری‌که برای دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد ۱۴/۶ ساعت و برای دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد ۱۰ ساعت طول کشید. ۴۶ ساعت زمان برای خشک کردن شاخه‌ها در آفتاب نیاز بود که به‌طور معنی‌داری نسبت به روش خشک کردن در سایه که بالاترین زمان (۱۰۹/۶ ساعت) را در میان تیمارها داشت کمتر بود (جدول ۴). عزیزی و همکاران (Azizi *et al*., 2009) گزارش کردند که در گیاه بابونه سریع‌ترین روش خشک کردن مربوط به روش مایکروویو و آهسته‌ترین روش مربوط به فرآیند خشک کردن در سایه بود. بکارگیری اشعه مایکروویو با توان ۸۰۰ وات برای خشک کردن سرشاخه‌های گیاه مریم گلی سبب افزایش فنل کل، فلاوونوئید کل و بیش‌ترین فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد گشت و با افزایش توان مایکروویو از ۶۰۰ به ۸۰۰ وات میزان فنل کل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج تحقیقات ارسلان و همکاران (Arsalan *et al*., 2010) نشان داد که کوتاه‌ترین زمان خشک شدن در نعناع فلفلی در روش ترکیبی آون (۵۰ درجه سانتی‌گراد) + مایکروویو (۷۰۰ وات) بود. همچنین در این روش بیش‌ترین میزان ترکیبات فنل کل و بهترین کیفیت رنگ گزارش شد. روش‌های دیگری مانند روش‌های همرفتی، مادون قرمز، مایکروویو، خلاء و تصعید نیز برای خشک کردن برگ‌های نعناع مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد کمترین تغییر در رنگ برگ‌های نعناع از روش خشک کردن در خلاء، همرفتی و روش تصعید به‌دست آمد.

تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر درصد اسانس نعناع فلفلی

روش‌های مختلف خشک کردن اثر معنی‌داری ($p\leq0.01$) بر درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی داشت. بیشترین درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی در روش خشک کردن در سایه بود و کمترین درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی در روش خشک کردن با مایکروفر در توان‌های ۶۰۰ و ۹۰۰ وات بود. هر چه زمان برای خشک کردن کمتر باشد درصد اسانس موجود در گیاه نیز بیشتر کاهش می‌یابد. همچنین دو روش طبیعی خشک کردن گیاه نعناع فلفلی با سایه و آفتاب از مناسب‌ترین روش‌ها برای بدست آوردن بیشترین اسانس از گیاه نعناع فلفلی بود. خشک کردن گیاه نعناع فلفلی با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون بسیار مناسب‌تر از دمای ۶۰ درجه بود و با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد می‌توان درصد اسانس بسیار بالاتری را بدست آورد. درصد اسانس در روش‌های مختلف خشک کردن با مایکروویو با توان‌های ۹۰، ۱۸۰، ۳۶۰، ۶۰۰، ۹۰۰ وات، آون ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد، سایه و آفتاب به‌ترتیب برابر ۱/۳۱، ۰/۷۲، ۰/۴۴، ۰/۰۱، ۰/۰۱، ۲/۰، ۰/۰۶، ۲/۱۳ و ۱/۴۴ بود (جدول ۴).

روش خشک کردن اثر معنی‌داری بر محتوی اسانس دارد و اگر هدف خشک شدن سریع و بدست آوردن اسانسی با درصد بالا باشد می‌توان روش خشک کردن با مایکروویو در توان‌های پایین را توصیه نمود (Ahmadi *et al.*, 2007). فرآیند خشک کردن بر درصد و اجزای اسانس تأثیر قابل توجهی دارد و این تأثیر براساس دمای خشک کردن، طول مدت خشک کردن و گونه گیاهی متفاوت است (Yazdani *et al.*, 2006). مقایسه دو روش خشک کردن، با آون و خشک کردن در شرایط طبیعی گیاه نعناع مشخص شد که حذف آب به روش خشک کردن طبیعی بهتر است زیرا باعث حفظ مقدار اسانس بیشتری می‌شود (Soysal *et al.*, 2006).

واگا-گلوز و همکاران (Vega-Gálvez *et al.*, 2009) تأثیر دماهای مختلف خشک کردن بر ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، رنگ و میزان ترکیبات فنلی فلفل قرمز[1] را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی با افزایش دما از ۵۰ درجه به ۹۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی (فعالیت جذب رادیکال‌های آزاد) را در پایین‌ترین دما (۵۰ درجه سانتی‌گراد) نسبت به بالاترین دما (۹۰ درجه سانتی‌گراد) نشان داد. علاوه بر این، رنگ نمونه‌ها با افزایش دما کاهش یافت و نمونه‌های خشک شده در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد تقریباً بی‌رنگ بودند.

در گیاه نعناع فلفلی، بیشترین (۳/۶۴ درصد) و کمترین (۰/۱۲ درصد) محتوی اسانس به‌ترتیب در روش خشک کردن در سایه و خشک کردن با اشعه مایکروویو در توان ۷۰۰ وات مشاهده شد (Ahmadi *et al.*, 2007). سفیدکن و همکاران (Sefidkon *et al.*, 2006) نشان دادند که بیشترین میزان اسانس در گیاه مرزه به‌ترتیب در روش‌های خشک کردن در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد آون و پس از آن در روش خشک کردن در سایه و آفتاب بدست آمد.

در بین ترکیب‌های تشکیل دهنده گیاهان دارویی، اسانس‌ها جزو حساس‌ترین ترکیب‌ها به فرآیند خشک کردن می‌باشند و حساسیت این ترکیب‌ها تعیین کننده میزان دمای بهینه برای خشک کردن می‌باشد، زیرا افزایش دمای مواد گیاهی در طی فرآیند خشک کردن ممکن است باعث تبخیر یا تخریب و در نتیجه از دست رفتن برخی اجزاء مهم اسانس شود (Omidbaigi, 2005). فرآیند خشک کردن بر درصد و اجزای تشکیل دهنده اسانس تأثیر قابل توجهی دارد و این تأثیر براساس دما و طول مدت خشک کردن و نیز گونه گیاهی متفاوت است (Yazdani *et al.*, 2006). در روش خشک کردن با آون، افزایش دما باعث کاهش بازده اسانس در نعناع فلفلی و رزماری شد بطوری‌که در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بازده اسانس به‌ترتیب از ۱ و ۲/۱۳ درصد به ۰/۱۴ و ۱/۶۲ درصد در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و به ۰/۱۲ و ۱/۰۹ درصد در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (Blanco *et al.*, 2002). خشک کردن در آون به‌ترتیب در دمای ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی گراد برای بدست آوردن حداکثر کمیت و کیفیت اسانس در گیاه اکالیپتوس و علف لیمو گزارش شده است (Fathi *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2000). با این وجود محتوای اسانس درخت چای تحت تأثیر درجه حرارت‌های مختلف خشک کردن قرار نگرفت ولی خشک کردن باعث کاهش محتوای اسانس در مقایسه با گیاه تازه چیده شده شد (Lemos *et al.*, 2008). بالاترین درصد اسانس بابونه در روش های خشک کردن با آون در دمای ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد و نیز خشک کردن در سایه به‌دست آمد، در حالی‌که کم‌ترین میزان اسانس در خشک کردن در دماهای بالای مایکروویو و دمای بالای آون و روش آفتاب خشک مشاهده شد (Azizi *et al.*, 2009).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی براساس نتایج این آزمایش می‌توان بیان کرد زمان برداشت اثر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی و اسانس گیاه نعناع فلفلی دارد و در هنگام کاشت این محصول باید بهترین زمان برداشت را در نظر داشت. از بین سه زمان برداشت (قبل از گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی و گلدهی کامل)، برداشت نعناع فلفلی در مرحله گلدهی کامل

1- *Capsicum annum*

منجر به بیشترین درصد اسانس و عملکرد اسانس شد. حداکثر ارتفاع و تعداد برگ در بوته با برداشت در زمان گلدهی کامل بدست آمد ولی حداکثر عملکرد تر و خشک اندام هوایی در برداشت ۵۰ درصد گلدهی مشاهده گردید. مقدار منتول و منتون به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات اسانس نعناع در مرحله گلدهی کامل بیشتر از دو زمان دیگر برداشت بود. همچنین براساس نتایج این آزمایش روش‌های مختلف خشک کردن گیاه نعناع فلفلی اثرات متفاوتی بر درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی دارند. کمترین زمان تا خشک شدن سرشاخه‌ها به‌ترتیب مربوط به کاربرد اشعه مایکرو، آون، خورشید و سایه بود و بالاترین بازده اسانس به‌ترتیب در روش‌های سایه، آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد، اشعه مایکرو ۹۰ وات و آفتاب بدست آمد.

جدول ٤- اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان تا خشک شدن و بازده اسانس گیاه نعناع فلفلی

Table 4- The effect of drying methods on time up to drying and essential oil efficiency of *Mentha piperita*

روش خشک کردن Drying method	سطح Level	زمان تا خشک شدن Time up to drying (hrs.)	بازده اسانس Essential oil efficiency (%)
مایکروویو Microwave (Watt)	90	1.12e	1.31bc
	180	0.65e	0.73dc
	360	0.37e	0.44de
	600	0.24e	0.01e
	900	0.16e	0.01e
آون Oven (°C)	40	14.6c	2.0ab
	60	10d	0.06de
سایه Shade	-	109.6a	2.13a
آفتاب Sun	-	46.3b	1.44abc

میانگین‌هایی با حروف مشابه در هر ستون با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each column, the means flowing with the same letter have not significant difference based on the LSD test at 5% of probability level.

References

1. Ahmadi, E. (2007). *The effect of different drying and storage methods on the content and composition of peppermint essential oil (Mentha piperita)*. Rezaieh Faculty of Agriculture and Animal Husbandry, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Akbarinia, A., Sharifi Ashoorabadi, E., & Mirza M. (2010). Study on drug yield and essential oil content and composition of *Thymus daenensis* Celak. under cultivated condition. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *26*(2), 205-212. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2010.6863
3. Arslan, D., Özcan, M.M., & Mengeş, H.O. (2010). Evaluation of drying methods with respect to drying parameters, some nutritional and colour characteristics of peppermint (*Mentha x piperita* L.). *Energy Conversion and Management*, *51*(12), 2769–2775. https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.06.013
4. Azizi, M., Rahmati M., Ebadi, M.T., & Hasanzadeh khayyat, M. (2009). The effects of different drying methods on weight loss rate, essential oil and chamazolene contents of chamomile (*Matricaria recutita*) flowers. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *25*(2), 182-192. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2009.7239
5. Bertome, J., Isabel Arrillage, M., & Segura, J. (2007). Essential oil variation whit in and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. *Biochemical Systematics and Ecology*, *35*, 479-488.
6. Blanco, M.C.S.G., Ming, L.C., Marques, M.O.M., & Bovi, O.A. (2002). Drying temperature effects in peppermint essential oil content and composition. *Acta Horticulturae*, *569*, 95-98. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.569.15
7. Blose, N. (2001). *Herb Drying Handbook: Includes Complete Microwave Drying Instructions*. New York: Sterling Publishing Co. Inc.
8. Chalchat, J.C., Garry, R.P., & Michet, A. (1997). Variation of the chemical composition of essential oil of *Mentha piperita* L. during the growing time. *Journal of Essential Oil Research*, *9*(4), 463-465. https://doi.org/10.1080/10412905.1997.9700750
9. Delaquis, D.J., Stanich, K., Girard, M., & Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, *74*(1-2), 101-109. https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00734-6

10. Diaz-Maroto, M.C., Perez-Coello, M.S., & Cabezudo, M.D. (2002). Effect of drying method on the volatiles in bay leaf (*Laurus nobilis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(16), 4520–4. https://doi.org/10.1021/jf011573d
11. Ebadi, M.T., Azizi, M., Sefidkon, F., & Ahmadi, N. (2015). Influence of different drying methods on drying period, essential oil content and composition of Lippia citriodora Kunth. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *2*(4), 182-187. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.06.001
12. Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi S.F., Nabavi, S.M., & Eslami, B. (2010). Antioxidant and antihemolytic activities of *Mentha piperita*. *Pharmacologyonline*, *1*, 744-752.
13. Edris, A.E., Shalaby, A.S., Fadel, M.A., & Wahab, A. (2003). Evaluation of a chemo type of spearmint (*Mentha spicata* L.) grown in Siwa Oasis, Egypt. *European Food Research and Technology*, *218*, 74–78. https://doi.org/10.1007/s00217-003-0802-4
14. Ekechukwu, O.V., & Norton, B. (1999). Review of solar-energy drying systems II: an overview of solar drying technology. *Energy Convers Manage*, *40*, 615–655. https://doi.org/10.1016/S0196-8904(98)00093-4
15. Fathi, E., Sefidkon, F., Bakhshi Khaniki1, Gh. Abravesh, Z., & Assareh, M.H. (2009). The effects of drying and distillation methods on essential oil content and composition of *Eucalyptus largiflorens*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *25*(1), 64-74.
16. Işcan, G., Kirimer, N., Kürkcüoğlu, M., Başer, K.H., & Demirci, F. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(14), 3943-6. https://doi.org/10.1021/jf011476k
17. Jaimand, K., Rezaee, M.B., & Askari, F. (2003). Comparative of two steam distillation apparatus (New design) and identification of chemical constituents on *Mentha x piperita* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *18*(1), 11-22.
18. Jaimand, K., Rezaee, M.B., & Nabi, G.R. (2000). Essential oils composition of two cultivars of *Mentha piperita* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *6*(1), 13-27.
19. Khorshidi, J., Omidbaigi, R., Sefidkon, F., Rostaei, A., & Fakhr Tabatabaei, M. (2009). *The effect of climate and harvesting time on the quality of essential oil of Thymus daenensis Celak.* Scientific Conference on the Development of Iranian Medicinal Plants Industry, March, Tehran. https://doi.org/10.22059/ijhs.2017.227727.1187
20. Kizil, S., Haşimi, N., Tolan, V., Kilinç, E., & Yüksel, U. (2010). Mineral content, essential oil components and biological activity of two Mentha species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, *15*(2), 148–153.
21. Lemos, D.R.H., Rocha, R.P., Melo, E.C., Visser, E., & Pinheiro, A.L. (2008). *Influence of drying air temperature on the essential oil content from Melaleuca alternifolia Cheel*. In: CIGR-International Conference of Agricultural Engineering, XXXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Agricola, Brazil, 31 August-4 September. https://doi.org/10.15871/1517-8595%2Frbpa.v13n3p257-261
22. MirAhmadi, F., Omidbaigi, R., Sefidkon, F., Rostaei, A., & Fakhr Tabatabaei, M. (2009). *Comparison of the quality of essential oil of Thymus fedtschenkoi in different stages of growth.* Scientific Conference on the Development of Iranian Medicinal Plants Industry, March, Tehran.
23. Mumivand, H., Rezaei Nejad, A.H., Taghipour, Sh., Sepahvand, K., Moradi, B. (2020).Effect of different drying methods on drying time and some phytochemical characteristic of Pelargonium (*Pelargonium graveolens*). *Journal of Horticultural Science*, *33*(4), 655-668.
24. Nikkhah, F., Sefidkon, F., & Sharifi Ashoorabadi, E. (2009). The effect of distillation methods and plant growth stages on the essential oil content and composition of *Thymus vulgaris* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *25*(3), 309-320. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2009.7146
25. Noruzi, F., Hojjati, M., Jooyandeh, H., & Barzegar, H. (2017). Study of the possibility of application oftarragonessential oil in mayonnaise as a natural additive. *Journal of Food Research*, *28*(3), 85-99.
26. Omidbaigi, R. (2005). *Production and Processing of Medicinal Plants (Volume 1)*. Tehran: Behnashr Publication, Iran.
27. Padmini, E., Valarmathi, A., & Usha Rani, M. (2010). Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis*. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, *1*(4), 772–781.
28. Rahmati, M., Azizi, M., Ebadi, M.T., & Hasanzadeh Khayat, M. (2010). Study on the effects of different drying methods on weight loss rate, essential oil and chamazolene contents of chamomile (*Matricaria recutita* CV. Germania (Diploid)) flowers. *Journal of Horticultural Science*, *24*(1), 29-37.
29. Risch, S.J. (1997). *Spices: sources, processing, and chemistry*. American Chemical Society.
30. Rocha, S.F.R., Ming, L.C., & Marques, M.O.M. (2000). Influence of five drying temperatures on themedicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, *33*, 179-189. https://doi.org/10.5897/JMPRx11.001

31. Sadegi, T. (2007). *Evaluation of the antioxidant effect of Iranian oregano essential oil. Dissertation of general veterinary course, final report of research project*. Faculty of Veterinary Medicine. University of Tehran.
32. SAS Institute Inc. (1989). *SAS/STAT User's Guide, Version 9.4.* SAS Institute, Inc., Cary.
33. Sefidkon, F., Abbasi, K., & Bakhshi Khaniki, G.B. (2006). Influence of drying and extraction method on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*, *99*(1), 19-23. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.026
34. Soysal Y., Oztekin S., & Eren, O. (2006). Microwave drying of parsley: modelling, kinetics, and energy aspects. *Biosystems Engineer*, *93*(4), 403- 413. https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.01.017
35. Sulieman, A.M.E., Abdelrahman, S.E., & Abdel Rahim, A.M. (2011). Phytochemical analysis of local spearmint (*Mentha spicata*) leaves and detection of the antimicrobial activity of its oil. *Journal of Microbiology Research*, *1*(1), 1−4. https://doi.org/10.5923/j.microbiology.20110101.01
36. Sweetie, R., Kanatt, R.C., & Arun, S. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation – processed lamb meat. *Food Chemistry*, *100*, 451-458. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.066
37. Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A.R., Mortazavi, S.A.,& Shahidi, F. (2018). Evaluation antioxidant activity, phytochemical constituents and antimicrobial of *Mentha piperita* essential oil on some infectious and poisonous microorganisms. *Journal of Food Science and Technology*, *76*(15), 67-76. http://dx.doi.org/10.30699/ijmm.13.3.210
38. Vega-Gálvez, A., Scala, K.D., KLemus-Mondaca, R., Miranda, M., López, J., & Perez-Won, M. (2009). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum* L. var. Hungarian). *Food Chemistry*, *117*(4), 647- 53. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.066
39. Yadegari, M., Amirfakhriyan, Z., & Mohammadkhani, A. (2013). The effects of different drying methods on essential oil content and composition and marketing of *Lippia citriodora* Kunth. *Journal of Applied Science and Agriculture*, *8*(5), 624−628.
40. Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., & Rasooli, I. (2006). Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry, 67*(12), 1249-1255. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.04.025
41. Yazdani, D., Shahnazi, S., Jamshidi, A., Rezazadeh, S., & Mojab, F. (2006). Study on variation of essential oil quality and quantity in dry and fresh herb of Thyme and Tarragon. *Journal of Medicinal Plants, 5*(17), 7-15.